体外模拟消化法优化生长猪饲粮非淀粉多糖酶谱

高理想[1,2]　陈　亮[1,2]　崔世贵[2,3]　谢月华[2,3]　张宏福[1,2]

（1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所，动物营养学国家重点实验室，北京 100193；2.中国农业科学院淮安健康养殖与饲料研究中心，淮安 223005；3.江苏华威农牧发展有限公司，淮安 223005）

摘　要：针对饲粮非淀粉多糖（NSP）酶的海量筛选工作和动物试验间的可比性差等问题，本研究探讨使用体外模拟法优化生长猪玉米-豆粕型饲粮和玉米-杂粕型饲粮的 NSP 酶谱。首先采用单因素随机试验设计，研究 NSP 酶的添加水平与饲粮体外干物质消化率（IVDMD）的关系。在玉米-豆粕型饲粮和玉米-杂粕型饲粮中分别添加不同水平的纤维素酶、木聚糖酶、β-葡聚糖酶、β-甘露聚糖酶、α-半乳糖苷酶和果胶酶 6 种 NSP 酶，分析各 NSP 酶对饲粮 IVDMD 的作用效果。然后采用二次回归旋转正交组合试验设计，筛选 2 种饲粮中 6 种 NSP 酶的最佳酶谱。结果表明：1）6 种 NSP 酶的添加水平与 2 种类型猪饲粮 IVDMD 之间存在二次曲线关系。2）α-半乳糖苷酶对玉米-豆粕型饲粮的 IVDMD 提升最高，达到了 1.28%，木聚糖酶对玉米-杂粕型饲粮的 IVDMD 提升最高，达到了 1.95%。3）玉米-豆粕型饲粮的最佳酶谱为：纤维素酶 533.6 U/kg、木聚糖酶 9 983.7 U/kg、β-葡聚糖酶 1 014.4 U/kg、β-甘露聚糖酶 4 080.6 U/kg、α-半乳糖苷酶 251.6 U/kg 和果胶酶 107.3 U/kg。玉米-杂粕型饲粮的最佳酶谱为：纤维素酶 960.0 U/kg、木聚糖酶 17 177.6 U/kg、β-葡聚糖酶 405.8 U/kg、β-甘露聚糖酶 19 023.2 U/kg、α-半乳糖苷酶 307.2 U/kg 和果胶酶 96.9 U/kg。4）优化后的酶谱使玉米-豆粕型饲粮的 IVDMD 提升了 3.26%，使玉米-杂粕型饲粮的 IVDMD 提升了 3.75%。由此可见，6 种 NSP 酶联合使用能够更大程度地提高生长猪玉米-豆粕型饲粮和玉米-杂粕型饲粮的 IVDMD。

关键词：非淀粉多糖酶；生长猪；饲粮；体外干物质消化率；优化

中图分类号：S828

非淀粉多糖（NSP）作为一种抗营养因子，常影响畜禽饲粮营养物质的消化[1-2]。NSP 酶由于可降低 NSP 的抗营养作用，越来越受到关注[3-5]。许多研究表明，NSP 酶能够降低 NSP 的抗营养作用，提高营养物质利用率[6-7]，改善肠道健康[8-9]。但是也有研究发现，NSP

收稿日期：2016-09-02

基金项目：国家科技支撑计划项目课题（2012BAD39B01）；中国农业科学院科技创新工程（ASTIP-IAS07）；产学研联合创新资金（BY2013054）；苏北科技发展计划（BN2014034）

作者简介：高理想（1987-），男，安徽阜阳人，博士研究生，从事饲料生物学效价评定研究。E-mail： glxahu@163.com

*通信作者：张宏福，研究员，博士生导师，E-mail： zhanghongfu@caas.cn

酶对猪生产性能[10-11]、营养物质利用率[12]没有影响。由于不同饲粮中 NSP 的含量和组成差异较大，而 NSP 酶作为生物反应的催化剂，对底物具有专一性，因此，NSP 酶的合理配伍是充分发挥其对饲粮中 NSP 降解作用的关键[13]。但是针对不同的饲粮，通过动物试验方法来筛选与之相适应的 NSP 酶的配伍，不但工作量巨大，而且结果变异比较大，不能满足实际需求。近年来，一些研究者通过体外模拟消化的方法来研究饲粮中添加 NSP 酶的效果[14-15]，为高效、快速的优化 NSP 酶的配伍提供了一个可行的途径。王恩玲等[16]和何科林等[17]使用胃蛋白酶-胰液素的体外 2 步模拟消化法对 NSP 酶在家禽饲粮中的作用效果进行了体外评定，取得了良好的促生产效果。Narasimha 等[18]使用体外消化法成功筛选出了纤维素酶、木聚糖酶和 β-葡聚糖酶在几种饲料原料中的最佳组合。但是，使用体外模拟消化法优化生长猪不同饲粮 NSP 酶谱的研究目前还没有报道。此外，胰液素是含有多种消化酶的复合物，不同批次之间组成有所不同，无法实现模拟肠液的重复以及测试重演性的需求。本实验室前期在研究生长猪小肠液组成的基础上开发了猪模拟小肠液[19]，并在猪饲粮的体外模拟消化上取得了较好的效果[20]。因此，本试验使用基于生长猪生理消化液组成依据的体外三角瓶 2 步消化法，在玉米-豆粕型和玉米-杂粕型 2 种不同类型的生长猪饲粮中使用 6 种 NSP 酶，探讨 NSP 酶对不同类型饲粮的作用效果，探索优化猪饲粮中 NSP 酶配伍的方法，为 NSP 酶在猪饲粮中的高效使用提供依据。

1　材料与方法

1.1　NSP 酶及酶活性测定

选用纤维素酶、木聚糖酶、β-葡聚糖酶、β-甘露聚糖酶、α-半乳糖苷酶和果胶酶 6 种 NSP 酶。纤维素酶活性测定参照 NY/T 912—2004[21]，木聚糖酶活性测定参照 GB/T 23874—2009[22]，β-葡聚糖酶活性测定参照 NY/T 911—2004[23]。β-甘露聚糖酶活性测定采用还原糖比色法，酶活性单位定义为：在 37 ℃、pH 5.5 的条件下，每分钟从浓度为 3 mg/mL 的甘露聚糖（Sigma G0753）溶液中降解释放 1 μmol 还原糖所需要的酶量，测定波长为 540 nm。α-半乳糖苷酶活性测定采用比色法，酶活性单位定义为：在 37 ℃、pH 5.5 的条件下，每分钟从浓度为 10 mmol/L 的对硝基苯-α-*D*-吡喃半乳糖苷（Sigma N0877）溶液中降解释放 1 μmol 对硝基酚所需要的酶量，测定波长为 400 nm。果胶酶活性测定采用还原糖比色法，酶活性单位定义为：在 37 ℃、pH 5.5 的条件下，每分钟从浓度为 4 mg/mL 的聚半乳糖醛酸（Sigma P9135）溶液中降解释放 1 μmol 半乳糖醛酸所需要的酶量，测定波长为 540 nm。

实测 6 种 NSP 酶活性值为：纤维素酶 6 867 U/g、木聚糖酶 33 290 U/g、β-葡聚糖酶 12 076 U/g、β-甘露聚糖酶 49 283 U/g、α-半乳糖苷酶 2 753 U/g、果胶酶 1 129 U/g。

1.2　试验饲粮

本试验于 2014—2015 年在中国农业科学院北京畜牧兽医研究所动物营养学国家重点实验室进行。参照 NRC（2012）[24]生长猪饲养标准，配制玉米-豆粕型和玉米-杂粕型 2 种饲粮，试验饲粮组成及营养水平见表 1。参考黄庆华等[2]的方法对饲粮 NSP 的含量进行测定，结果见表 2.

表 1　试验饲粮组成及营养水平（饲喂基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets (as-fed basis)　　%

项目 Items	玉米-豆粕型饲粮 Corn-soybean meal diet	玉米-杂粕型饲粮 Corn-miscellaneous meal diet
原料 Ingredients		
玉米 Corn	73.13	57.98
豆粕 Soybean meal	23.25	18.40
菜籽粕 Rapeseed meal		5.00
棉籽粕 Cottonseed meal		5.00
甜菜粕 Sugar beet pulp meal		10.00
石粉 Limestone	0.91	0.91
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.01	1.01
预混料 Premix1)	1.00	1.00
食盐 NaCl	0.30	0.30
三氧化二铬 Chromic oxide	0.40	0.40
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels2)		
干物质 Dry matter	88.9	89.0
粗蛋白质 Crude protein	17.2	17.7
淀粉 Starch	44.2	36.8
中性洗涤纤维 NDF	10.5	13.1
酸性洗涤纤维 ADF	2.8	6.1
总能 Gross energy/(MJ/kg)	16.46	16.42

1) 预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets：VA 8 250 IU，VD_3 825 IU，VE 40 IU，VK_3 4 mg，生物素 biotin 0.2 mg，氯化胆碱 choline chloride 600 mg，叶酸 folic acid 2 mg，烟酸 nicotinic acid 35 mg，泛酸 pantothenic acid 15 mg，VB_2 5 mg，VB_1 1 mg，VB_6 2 mg，VB_{12} 25 μg，Cu (as copper sulfate) 50 mg，I (as potassium iodide) 0.5 mg，

Fe (as ferrous sulfate) 80 mg，Mn (as manganese sulfate) 25 mg，Se (as sodium selenite) 0.15 mg，Zn (as zinc sulfate) 100 mg。

2）实测值 Measured values。

表 2　饲粮的非淀粉多糖含量（干物质基础）

Table 2　The content of non-starch polysaccharides in diets (DM basis)　　%

饲粮 Diets		鼠李糖 Rhamnose	岩藻糖 Ribose	阿拉伯糖 Arabinose	木糖 Xylose	甘露糖 Mannose	半乳糖 Galactose	葡萄糖 Glucose	糖醛酸 Uronic acid	阿拉伯木聚糖 Araboxylans	总量 Total
玉米-豆粕型 Corn-soybean meal	可溶 Soluble	0.15±0.15	0.05±0.03	0.02±0.00	0.15±0.06	0.76±0.04	0.47±0.02	0.17±0.07	0.21±0.03	0.13±0.06	1.68±0.19
	不溶 Insoluble	1.42±0.05	0.05±0.02	1.92±0.04	2.75±0.02	0.42±0.01	0.88±0.01	3.50±0.11	0.52±0.03	4.69±0.10	11.60±0.15
	总 Total	1.57±0.03	0.10±0.00	1.94±0.09	2.90±0.04	1.11±0.03	1.34±0.05	3.67±0.08	0.73±0.00	4.82±0.07	13.29±0.24
玉米-杂粕型 Corn-miscellaneous meal	可溶 Soluble	0.02±0.02	0.05±0.03	1.31±0.03	0.11±0.09	0.85±0.02	0.79±0.01	0.50±0.05	1.04±0.05	1.28±0.11	3.70±0.37
	不溶 Insoluble	1.53±0.09	0.06±0.03	2.44±0.03	2.93±0.19	0.46±0.00	1.02±0.02	5.62±0.17	0.84±0.02	5.51±0.17	14.72±0.38
	总 Total	1.54±0.09	0.11±0.00	3.76±0.16	3.04±0.01	1.37±0.08	1.82±0.05	6.12±0.06	1.88±0.02	6.79±0.17	18.43±0.23

1.3　体外消化率的测定

1.3.1　试剂的配制

胃缓冲液、小肠缓冲液按照赵峰等[25]的方法进行制备，用 KOH 将小肠缓冲液 pH 调为 7.0，其余组成不变。模拟消化液的制备如下：

模拟猪胃液：称取 184.38 kU 的胃蛋白酶（Sigma，P7000）溶解于 250 mL pH 2.0 的胃缓冲溶液中（39 ℃下标定 pH），缓慢搅拌直至溶解（临用前配制）。

模拟猪小肠液：量取淀粉酶（Sigma，A3306）60.89 kU，胰蛋白酶（Amersco，0785）19.00 kU，糜蛋白酶（Amersco，0164）2.39 kU，脂肪酶（Sigma，L3126）919.2 U 溶解于 25 mL 去离子水中，并缓慢搅拌直至溶解（临用前配制）。

1.3.2　体外消化法操作过程

准确称取 1 g（过 60 目筛）饲料样品（精确至 0.000 1 g），置于 50 mL 三角瓶中，向三角瓶中加入 16 mL 模拟猪胃液，小心混合均匀，用封口膜密封。

放于 39 ℃恒温水浴摇床中（180 r/min）。准确消化 4 h，完成胃期的模拟消化。

完成胃期模拟消化后，打开封口膜，向三角瓶中准确加入 4 mL 小肠缓冲液，水浴摇床运行 5 min 后，加入预先配制的 2 mL 模拟猪小肠液。封口膜密封，39 ℃恒温水浴摇床（180 r/min）中进行 22 h 的小肠期模拟消化。取出三角瓶，室温静置 30 min，用事先已绝干称重的滤纸（Whatman 1541，孔径 22~25 μm）对三角瓶中的消化残渣真空抽滤。将抽滤后的残渣和滤纸置于 105 ℃烘箱中烘干至恒重。

1.4 试验设计

采用单因子试验设计，在 2 种饲粮中分别添加不同水平的 6 种 NSP 酶。采用基于猪生理消化液组成的体外三角瓶 2 步法（模拟猪胃液+模拟猪小肠液），通过测定体外干物质消化率（*in vitro* dry matter digestibility,IVDMD），分析各 NSP 酶对不同类型饲粮 IVDMD 的作用。然后采用六元二次回归旋转正交组合试验设计，进行最佳酶谱组合的筛选。6 种 NSP 酶为 6 个影响因子，每个因子设置 5 个水平，分别用-2.384、-1、0、1、2.384 编码酶添加水平，以 IVDMD 为指标筛选出最佳酶谱组合。

1.5 数据处理

使用 SAS 9.2 软件的 GLM 模块分析单一 NSP 酶添加水平与饲粮 IVDMD 的回归关系。使用六元二次正交回归旋转设计确定各因素的组合，试验数据用 SAS 9.2 RSREG 模块进行分析，P＜0.05 为差异显著水平，0.05≤P<0.10 为有显著趋势。

2 结果与分析

2.1 玉米-豆粕型饲粮和玉米-杂粕型饲粮营养物质含量和 NSP 组成

从表 1 可以看出，玉米-豆粕型饲粮的粗蛋白质含量和总能分别为 17.2%和 16.46 MJ/kg，与玉米-杂粕型饲粮（17.7%，16.42 MJ/kg）比较接近。但是由于玉米-豆粕型饲粮中玉米含量较高，所以其淀粉含量（44.2%）高于玉米-杂粕型饲粮（36.8%），中型洗涤纤维含量（10.5%）和酸性洗涤纤维含量（2.8%）均低于玉米-杂粕型饲粮的 13.1%和 6.1%。

从表 2 可以看出，玉米-杂粕型饲粮的总 NSP、不可溶性 NSP 和可溶性 NSP 的含量均高于玉米-豆粕型饲粮。从 NSP 的组成来看，玉米-杂粕型饲粮 NSP 的大部分组分也高于玉米-豆粕型饲粮，阿拉伯木聚糖是 2 种饲粮 NSP 的主要组成部分，其次是葡萄糖。

2.2 NSP 酶对玉米-豆粕型饲粮 IVDMD 的影响

6 种单一 NSP 酶对玉米-豆粕型饲粮 IVDMD 的影响见表 3 所示。在较低的添加水平时，玉米-豆粕型饲粮 IVDMD 均随着 NSP 酶添加水平的增加而提高，当纤维素酶、木聚糖酶、β-葡聚糖酶、β-甘露聚糖酶、α-半乳糖苷酶和果胶酶的添加水平分别为 60、200、80、60、80 和 100 μg/g 时，IVDMD 达到最大，不再随着添加水平的提高而上升。

表 3　NSP 酶对玉米-豆粕型饲粮 IVDMD 的影响

Table 3　Effects of NSP enzymes on IVDMD of corn-soybean meal diet

纤维素酶 Cellulase		木聚糖酶 Xylanase		β-葡聚糖酶 β-glucanase		β-甘露聚糖酶 β-mannanase		α-半乳糖苷酶 α-galactosidase		果胶酶 Pectinase	
添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%
0	79.24	0	79.64	0	79.82	0	79.63	0	79.80	0	79.78
20	79.51	100	79.80	20	80.07	20	80.07	20	80.07	20	79.92
40	79.63	200	80.50	40	80.18	40	80.36	40	80.34	60	80.33
60	79.86	300	80.47	60	80.44	60	80.68	60	80.74	100	80.72
80	79.72	400	80.48	80	80.68	80	80.66	80	81.08	150	80.66
100	79.65	500	80.42	100	80.62	100	80.53	100	80.87	200	80.72

从表 4 可以看出，6 种 NSP 酶的添加水平与 IVDMD 之间都呈现二次曲线关系（$P<0.01$），即 IVDMD 不会随着 NSP 添加水平的持续升高而一直增加。通过模型计算的各 NSP 酶作用下 IVDMD 最大值和实际测定的最大值均非常接近。不同 NSP 酶单一作用时对 IVDMD 的提升程度不一，α-半乳糖苷酶对玉米-豆粕型饲粮 IVDMD 提升程度最大，达到了 1.28%，其次是 β-甘露聚糖酶，达到了 1.05%，纤维素酶提升最小，只有 0.62%。

表 4　NSP 酶添加水平与玉米-豆粕型饲粮 IVDMD 的关系

Table 4　The correlation of NSP enzymes supplemental levels and IVDMD of corn-soybean meal diet

项目 Items	关系模型 Correlation model	相关系数 R^2	P 值 P-value	IVDMD 最大计算值 Maximum calculated value of IVDMD/%
纤维素酶 Cellulase	Y=79.23+0.016 36X-0.000 12X^2	0.92	<0.01	79.79
木聚糖酶 Xylanase	Y=79.56+0.005 2X-0.000 007X^2	0.93	<0.01	80.53
β-葡聚糖酶 β-glucanase	Y=79.81+0.013 1X-0.000 044X^2	0.98	<0.01	80.79
β-甘露聚糖酶 β-mannanase	Y=79.61+0.027 5X-0.000 18X^2	0.94	<0.01	80.66
α-半乳糖苷酶 α-galactosidase	Y=79.73+0.022 2X-0.000 097X^2	0.98	<0.01	81.00

果胶酶 Pectinase	Y=79.74+0.012 7X-0.000 039X^2	0.95	<0.01	80.77

2.3 各 NSP 酶对玉米-杂粕型饲粮 IVDMD 的影响

6 种单一 NSP 酶对玉米-杂粕型饲粮 IVDMD 的影响如表 5 所示。与玉米-豆粕型饲粮类似，在较低的添加水平时，玉米-杂粕型饲粮 IVDMD 均随着添加水平的增加而提高，当纤维素酶、木聚糖酶、β-葡聚糖酶、β-甘露聚糖酶、α-半乳糖苷酶和果胶酶的添加水平分别为 100、400、80、300、100 和 100 μg/g 时，IVDMD 达到最大，不再随着添加水平的提高而上升。

表 5 NSP 酶对玉米-杂粕型饲粮 IVDMD 的影响

Table 5 Effects of NSP enzymes on IVDMD of corn-miscellaneous meal diet

纤维素酶 Cellulase		木聚糖酶 Xylanase		β-葡聚糖酶 β-glucanase		β-甘露聚糖酶 β-mannanase		α-半乳糖苷酶 α-galactosidase		果胶酶 Pectinase	
添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%	添加水平 Supplemental levels/(μg/g)	体外干物质消化率 IVDMD/%
0	70.25	0	69.71	0	70.07	0	70.19	0	70.06	0	70.72
40	70.48	100	70.03	20	70.33	100	70.99	40	70.54	50	71.34
60	70.61	200	70.56	40	70.4	200	71.49	60	70.69	100	71.72
80	70.73	300	71.08	60	70.47	300	72.09	80	70.81	150	71.44
100	71.07	400	71.66	80	70.70	400	72.03	100	71.04	200	71.54
120	71.05	500	71.62	100	70.71	500	71.90	200	71.08	250	71.36

从表 6 可以看出，6 种 NSP 酶中除木聚糖酶和 β-葡聚糖酶外，添加水平与 IVDMD 之间均呈现二次曲线关系（P<0.01），即 IVDMD 不会随着 NSP 添加水平的持续增加而一直上升。虽然木聚糖酶和 β-葡聚糖酶与 IVDMD 的二次模型不显著（P＞0.05），但是 IVDMD 也没有随着这 2 种酶添加水平的增加而一直上升。通过模型计算的各 NSP 酶作用下 IVDMD 最大值和实际测定的最大值也均非常接近。单一 NSP 酶作用中，木聚糖酶和 β-甘露聚糖酶对玉米-杂粕型饲粮的 IVDMD 提升作用较大，分别达到了 1.95%和 1.90%，对 IVDMD 提升程度最低的是 β-葡聚糖酶，只有 0.63%。

表 6 NSP 酶添加水平与玉米-杂粕型饲粮 IVDMD 的关系

Table 6 The correlation of NSP enzymes levels and IVDMD of corn-miscellaneous meal diet

项目 Items	关系模型 Correlation model	决定系数 R^2	P 值 P-value	IVDMD 最大计算值 Maximum calculated value of IVDMD/%
纤维素酶 Cellulase	Y=70.24+0.005 5X-0.000 015X^2	0.94	<0.01	70.74
木聚糖酶 Xylanase	Y=69.61+0.005 7X-0.000 003X^2	0.95	0.19	72.32
β-葡聚糖酶 β-glucanase	Y=70.07+0.006 0X-0.000 014X^2	0.91	0.20	70.71
β-甘露聚糖酶 β-mannanase	Y=70.17+0.009 6X-0.000 012X^2	0.97	<0.01	72.09
α-半乳糖苷酶 α-galactosidase	Y=70.05+0.013 7X-0.000 042X^2	0.91	<0.01	71.17
果胶酶 Pectinase	Y=70.80+0.011 2X-0.000 037X^2	0.89	<0.01	71.65

2.4 IVDMD 与 NSP 酶谱回归模型的建立及最佳酶谱组合的筛选

当单一的 NSP 酶对饲粮的 IVDMD 提升作用达到最大时，即随着 NSP 酶添加水平的增加，饲粮的 IVDMD 不再继续上升时，选取此时的添加水平为 0 编码水平。在玉米-豆粕型饲粮中，使 IVDMD 达到最大值时纤维素酶、木聚糖酶、β-甘露聚糖酶、α-半乳糖苷酶、β-葡聚糖酶的添加水平分别为 60、200、60、80、80 和 100 μg/g。在玉米-杂粕型饲粮中，使 IVDMD 达到最大值时纤维素酶、木聚糖酶、β-葡聚糖酶、β-甘露聚糖酶、α-半乳糖苷酶和果胶酶的添加水平分别为 100、400、80、300、100 和 100 μg/g。按照六元二次正交旋转组合试验设计的要求，确定各因素（NSP 酶）的编码值及相应水平（表 7）。进行不同组合下的体外消化试验，每种饲粮各进行 53 组试验。根据体外消化试验结果，建立 IVDMD（Y，%）与 NSP 酶添加水平（X，μg/g）的六元二次回归方程，回归方程及相关参数见表 8。

表 7 NSP 酶对 IVDMD 影响的六元二次回归正交旋转组合设计因素及水平

Table 7 Variables and levels of the quadratic orthogonal rotation combination design of the effects of NSP enzymes on IVDMD

项目 Items	编码值 Code	因素 Variables/（μg/g） 纤维素酶 Cellulase（X_1）	木聚糖酶 Xylanase（X_2）	β- 甘 露 聚 糖 酶 β-mannanase （X_3）	α-半乳糖苷酶 α-galactosidase （X_4）	β-葡聚糖酶 β-glucanases （X_5）	果胶酶 Pectinase（X_6）
玉米-豆粕型饲粮 Corn-soybean meal diet	2.378	83.8	318.9	83.8	127.6	127.6	147.6
	1	70	250	70	100	100	120

	0	60	200	60	80	80	100
	-1	50	150	50	60	60	80
	-2.378	36.2	81.1	36.2	32.4	32.4	52.4
玉米-杂粕型饲粮 Corn-miscellaneous meal diet	2.378	147.6	637.8	418.9	147.6	127.6	147.6
	1	120	500	350	120	100	120
	0	100	400	300	100	80	100
	-1	80	300	250	80	60	80
	-2.378	52.4	162.2	181.1	52.4	32.4	52.4

表 8　饲粮最佳酶谱回归方程及其参数

Table 8　Regression equation and interrelated parameter of best enzyme combinations of the diets

饲粮 Diets	回归方程 Regression equation	P 值 P-value
玉米-豆粕型 Corn-soybean meal	Y=80.23-0.117 9X_1+0.105 3X_2+0.094 2X_3-0.096 1X_4-0.190 4X_5-0.017 8X_6+0.238X_1X_2+0.183 8X_1X_3-0.077 5X_1X_4-0.234 4X_1X_5-0.016 9X_1X_6+0.086 3X_2X_3+0.045X_2X_4+0.180 6X_2X_5-0.056 9X_2X_6+0.180 6X_3X_4+0.123 8X_3X_5+0.015X_3X_6+0.088 8X_4X_5-0.007 5X_4X_6-0.030 6X_5X_6+0.110 3X_1^2+0.104 1X_2^2+0.148 3X_3^2+0.051 9X_4^2+0.067X_5^2 +0.036X_6^2	0.04
玉米-杂粕型 Corn-miscellaneous meal	Y=71.15+0.145 9X_1+0.102 9X_2+0.069 1X_3+0.050 8X_4-0.032 3X_5+0.047 6X_6+0.029 4X_1X_2-0.001 3X_1X_3-0.001 9X_1X_4-0.087 5X_1X_5-0.043 8X_1X_6+0.046 9X_2X_3+0.007 5X_2X_4-0.054 4X_2X_5-0.058 1X_2X_6+0.049 4X_3X_4-0.053 8X_3X_5-0.023 8X_3X_6+0.024 4X_4X_5-0.005 6X_4X_6-0.013 8X_5X_6+0.098X_1^2+0.023 7X_2^2+0.116 6X_3^2+0.126 3X_4^2+0.128 9X_5^2+0.118 3X_6^2	0.02

进一步分析了 6 种 NSP 酶两两之间的交互作用，结果发现（数据未列出）：在玉米-豆粕型饲粮中，纤维素酶和木聚糖酶（P=0.013 3）、纤维素酶和 β-甘露聚糖酶（P=0.050 3）、木聚糖酶和 β-葡聚糖酶（P=0.054 0）以及 β-甘露聚糖酶和 α-半乳糖苷酶（P=0.054 0）存在正的互作效应或具有协同效应的趋势（0.05<P<0.10）。而纤维素酶和 β-葡聚糖酶间具有显著的拮抗作用，表现出负的互作效应（P=0.014 6）。在玉米-杂粕型饲粮中，各 NSP 酶之间互作效应的 P 值均大于 0.10，不存在趋势或显著性差异（P＞0.05）。玉米-豆粕型饲粮和玉米-杂粕型饲粮的回归方程均达显著水平（P<0.05）。说明 6 种 NSP 酶与 IVDMD 的函数关系是可用的用此模型进行优化分析获得最佳酶谱组合（表 9）。

对优化出的酶谱进行有效性验证，结果如表 10 所示。经过优化后的 NSP 酶谱理论上使玉米-豆粕型饲粮的 IVDMD 达到 83.17%，理论提升 3.82%，实际测定的 IVDMD 为 82.61%，实际上提升了 3.26%。经过优化后的 NSP 酶谱理论上使玉米-杂粕型饲粮的 IVDMD 达到 74.37%，理论提升 3.51%，实际测定的 IVDMD 为 74.61%，实际上提升了 3.75%。

表 9　饲粮最佳 NSP 酶谱组合

Table 9　Optimum NSP enzyme combinations of the diets

NSP 酶 NSP enzymes	玉米-豆粕型饲粮 Corn-soybean meal diet		玉米-杂粕型饲粮 Corn-miscellaneous meal diet	
	组合编码值 Combination code	最佳组合添加水平 Optimal combination supplemental level/（U/kg）	组合编码值 Combination code	最佳组合添加水平 Optimal combination supplemental level/（U/kg）
纤维素酶 Cellulase	1.77	533.6	1.99	960.0
木聚糖酶 Xylanase	1.99	9 983.7	1.16	17 177.6
β-甘露聚糖酶 β-mannanase	2.28	4 080.6	1.72	19 023.2
α-半乳糖苷酶 α- galactosidase	0.57	251.6	0.58	307.2
β-葡聚糖酶 β-glucanases	0.20	1 014.4	-2.32	405.8
果胶酶 Pectinase	-0.25	107.3	-0.71	96.9

表 10　最佳 NSP 酶谱组合有效性的验证

Table 10　Effectiveness verification of the optimum NSP enzymes combinations

项目 Items	对照组 Control group	预测体外干物质消化率 Predicted IVDMD	理论提升值 Increased value in theory	测定体外干物质消化率 Determined IVDMD	实际提升值 Increased value in true
玉米-豆粕型饲粮 Corn-soybean meal diet	79.35%	83.17%	3.82%	82.61%	3.26%
玉米-杂粕型饲粮 Corn-miscellaneous meal diet	70.86%	74.37%	3.51%	74.61%	3.75%

3　讨　论

3.1　基于饲粮 NSP 组成筛选猪饲粮 NSP 酶谱的重要性

本试验在实验室前期建立的测定饲粮 NSP 含量和组成的方法的基础上[2]，对 2 种饲粮的 NSP 含量和组分进行了测定。从结果可以看出，含有棉籽粕、菜籽粕和甜菜粕的玉米-杂粕型饲粮的 NSP 含量高于玉米-豆粕型饲粮。2 种饲粮 NSP 的组分包括阿拉伯木聚糖、葡萄糖、糖醛酸、甘露糖、半乳糖和鼠李糖等，岩藻糖的含量很低。猪饲粮中大部分 NSP 的降解是在大肠中微生物的作用下发生的[26-27]，因此，NSP 的抗营养作用会影响营养物质在胃和小肠中的消化吸收。而猪饲粮中 NSP 的降解程度与 NSP 的溶解度、多糖聚合物的类型以

及和细胞壁其他成分结构上的关联程度有关[28]。一些研究发现，NSP 酶可提高猪饲粮干物质消化率[6,29]、氮的消化率[30-31]和能量消化率[10,32]，但是也有一些研究发现猪饲粮中添加 NSP 酶对干物质消化率[11]、蛋白质消化率[12]和能量消化率[29]没有影响。由这些文献报道可以看出，NSP 酶对猪的生长性能以及营养物质消化率的影响是不一致的，这种差异很大程度上是由于饲粮的组成和酶的选择不对称造成的。所以，根据饲粮中 NSP 的组成和含量，添加与之相适应的 NSP 酶种类，可充分挖掘出饲粮的营养价值。

体外模拟消化法以其具有的快速、重复性好以及与生物法相关性高等特点，被一些研究者用来进行 NSP 酶作用效果的研究。Bedford 等[14]使用胃蛋白酶-胰液素 2 步模拟消化法，根据不同水平的木聚糖酶对食糜黏度的影响成功预测了在肉鸡小麦类饲粮中添加木聚糖酶的效果。Malathi 等[15]研究了 3 种不同菌株产生的 NSP 酶对几种饲料原料的体外消化作用的影响，发现不同来源的 NSP 酶对饲料原料的黏度和总糖释放量的作用不同。Saleh 等[33]研究了几种单一的 NSP 酶对豆粕体外粗蛋白质和干物质消化率的影响，发现果胶酶对豆粕的 IVDMD 提升最大。Narasimha 等[18]使用体外消化法在确定纤维素酶、木聚糖酶和 β-葡聚糖酶在几种饲料原料中最适添加水平的基础上，进一步针对不同的原料筛选出了 3 种 NSP 酶的最佳组合。以上研究者使用的体外消化法均是基于 Boisen 等[34]建立的以“三角瓶+摇床”为测试工具的方法与手段。许多研究发现使用以三角瓶为反应容器的体外酶法测定的饲粮体外消化率与体内消化率之间具有很高的相关性。Boisen 等[34]使用此方法测定的饲粮有机物体外消化率与猪的生物学法测定的表观能量消化率之间的相关系数达到了 0.94。Regmi 等[35]使用此方法测定的 21 个批次大麦的体外能量消化率与生物学法测定的表观能量消化率之间的相关系数达到了 0.81。此外，通过酶法测定猪饲粮的消化能值也已被丹麦、荷兰、法国等发达国家所认同，并成为其新型饲养标准的核心技术[36]。

但是，国内外研究者们普遍使用的胃蛋白酶+胰液素的体外模拟消化体系中，胰液素是从猪胰腺中提取的含有多种消化酶的复合物，不同批次胰液素在组成上不是完全相同的，无法实现对模拟消化重演性的需求。此外，针对猪、鸡等不同的动物，均使用胰液素来进行模拟消化，是脱离动物的消化生理依据的。本实验室前期在研究猪消化生理参数的基础上，开发了基于生长猪消化生理依据的模拟猪小肠液，能很好的模拟猪饲粮在动物体内的消化过程，体内外的相关系数在 0.95 以上[19-20]。因此，本研究采用“三角瓶+基于猪生理依据配制的模拟消化液”来研究 6 种 NSP 酶对 2 种不同类型生长猪饲粮体外消化率的影响。结果表明，2 种饲粮的 IVDMD 并不是随着 NSP 酶添加水平的增加而一直升高，当 NSP 酶的添加水平到一定程度时，饲粮的 IVDMD 不再上升，说明 NSP 酶的添加有适宜水平的问题，并

不是越高越好。不同饲粮中同一种 NSP 酶达到临界点时的添加水平也不相同，这是由于不同类型饲粮中 NSP 的含量不同。2 种饲粮中 6 种 NSP 酶单独作用时的最适添加水平差别很大，比如玉米-杂粕型饲粮中木聚糖酶的单独最适添加水平为 400 μg/g，β-甘露聚糖酶的单独最适添加水平为 300 μg/g，而玉米-豆粕型饲粮中木聚糖酶的单独最适添加水平为 200 μg/g，β-甘露聚糖酶的单独最适添加水平仅为 60 μg/g。因此，根据不同类型饲粮中 NSP 的含量和组成的不同，筛选与其相适合的 NSP 酶的配伍尤为重要。

3.2　单一 NSP 酶的添加对饲粮 IVDMD 的影响

不同类型的饲粮由于组成不同，导致其 NSP 的含量和组成也不同。本试验在研究单一 NSP 酶对 2 种类型饲粮 IVDMD 的作用时发现，玉米-杂粕型饲粮中 6 种 NSP 酶的最佳添加水平普遍高于玉米-豆粕型饲粮，尤其是木聚糖酶和 β-甘露聚糖酶。木聚糖酶的添加使玉米-杂粕型饲粮的 IVDMD 提高了 1.95%，高于玉米-豆粕型饲粮的 0.68%，β-甘露聚糖酶的添加使玉米-杂粕型饲粮的 IVDMD 提高了 1.90%，也高于玉米-豆粕型饲粮的 1.05%。这主要是因为玉米中的 NSP 含量只有 8%左右，而玉米-杂粕型饲粮中含有菜籽粕、棉籽粕和甜菜粕，而豆粕、菜籽粕和棉籽粕的 NSP 含量分别在 22%、24%和 30%左右，甜菜粕中 NSP 的含量更是高达 65%。从表 2 可以看出，玉米-豆粕型饲粮的总 NSP 含量为 13.29%，而玉米-杂粕型饲粮的总 NSP 含量达到了 18.43%。在玉米-杂粕型饲粮中木聚糖含量达到了 6.79%，是其 NSP 的主要组成部分，甘露聚糖含量也较高。随着高水平的木聚糖和甘露聚糖的降解，其 IVDMD 会有比较大的提升。虽然在玉米-豆粕型饲粮中，木聚糖和葡萄糖的含量较高，但是 α-半乳糖苷酶和 β-甘露聚糖酶对玉米-豆粕型饲粮 IVDMD 提升程度高于木聚糖酶和纤维素酶，这可能是由于酶具有底物专一性，而不同的原料中，NSP 的长链骨架的构成和键型以及交联基团有所差异。这更进一步说明了不能盲目的依据饲粮中 NSP 的含量去确定 NSP 酶的添加水平。

3.3　NSP 酶谱对饲粮 IVDMD 的提升作用

饲粮中的 NSP 是由其各组分通过多种类型的化学键交联而成的复杂结构，只有使它们之间的相关连接被破坏，才能破坏其抗营养性，发挥饲粮营养潜能[37-39]。NSP 组分和结构的复杂性导致了单一的 NSP 酶很难充分发挥作用，多种 NSP 酶的共同作用才有可能有效地降解链式结构，释放营养物质，提高饲粮的营养价值[40-41]。从本试验结果可以看出，经过优化后的 NSP 酶谱，其对各自饲粮的 IVDMD 的提升程度均高于单一酶的作用。这表明 6 种 NSP 酶的协同作用，使饲粮中的 NSP 得到了更充分的降解。Malathi 等[15]通过体外消化法测定消化产物的黏度和总糖释放量对几种酶谱组合的效果进行了对比，发现与纤维素酶+木聚

糖酶组合以及纤维素酶+木聚糖酶+β-葡聚糖酶组合相比，木聚糖酶+纤维素酶+果胶酶+β-葡聚糖酶组合使豆粕的总糖释放量显著增加。Saleh 等[33]研究发现，经过体外 2 步模拟消化后，纤维素酶、果胶酶、木聚糖酶、葡聚糖酶和半纤维素酶组合作用时玉米-豆粕型饲粮的总糖释放率高于各种酶单一作用时，与本试验的结果也相一致。本试验中，优化后的 NSP 酶谱对 NSP 含量相对较高的玉米-杂粕型饲粮的 IVDMD 提升程度相对高于 NSP 含量较低的玉米-豆粕型饲粮。赵敏[42]研究发现，NSP 酶对蛋鸡玉米-杂粕型饲粮的离体消化能的提升高于玉米-豆粕型饲粮。何科林等[17]研究发现，NSP 酶对肉鸡小麦型饲粮的离体消化能的提升也高于玉米-豆粕型饲粮。以上结果均和本试验的研究结果相一致。这是因为 NSP 酶能显著提高饲粮 IVDMD 的基础是饲粮中的 NSP 含量，NSP 含量高的饲粮，NSP 酶对其消化率的提升作用才会更明显，玉米-豆粕型饲粮的 NSP 含量（13.29%）低于玉米-杂粕型饲粮（18.43%），所以 NSP 酶对其的作用效果略低。

4 结 论

① 基于猪生理消化液组成依据的胃蛋白酶-模拟小肠液体外 2 步消化法是快速优化生长猪饲粮 NSP 酶谱的可行的途径，可为生产上对 NSP 酶作用效果的初步预判提供帮助。

② 在本试验条件下，生长猪玉米-豆粕型饲粮的最佳 NSP 酶谱组成为：纤维素酶 533.6 U/kg，木聚糖酶 9 983.7 U/kg，β-甘露聚糖酶 4 080.6 U/kg，α-半乳糖苷酶 251.6 U/kg，β-葡聚糖酶 1 014.4 U/kg，果胶酶 107.3 U/kg；生长猪玉米-杂粕型饲粮的最佳 NSP 酶谱组成为：纤维素酶 960.0 U/kg，木聚糖酶 17 177.6 U/kg，β-甘露聚糖酶 19 023.2 U/kg，α-半乳糖苷酶 307.2 U/kg，β-葡聚糖酶 405.8 U/kg，果胶酶 96.9 U/kg。

③ 在本试验条件下，针对 2 种类型饲粮筛选的 NSP 酶谱，分别使玉米-豆粕型饲粮的 IVDMD 提高 3.26%、玉米-杂粕型饲粮的 IVDMD 提高 3.75%。

参考文献：

[1] BACH KNUDSEN K E.Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding[J].Animal Feed Science and Technology,1997,67(4):319–338.

[2] 黄庆华,陈亮,高理想,等.乙酸酐衍生化气相色谱法测定饲料非淀粉多糖含量时适宜称样量确定依据的研究[J].动物营养学报,2015,27(5):1620–1631.

[3] HOODA S,METZLER-ZEBELI B U,VASANTHAN T,et al.Effects of viscosity and fermentability of purified non-starch polysaccharides on ileal and total tract nutrient digestibility in ileal-cannulated grower pigs[J].Livestock Science,2010,134(1/2/3):79–81.

[4] CHOCT M,DERSJANT-LI Y,MCLEISH J,et al.Soy oligosaccharides and soluble non-starch

polysaccharides:a review of digestion,nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry[J].Asian-Australasian Journal of Animal Science,2010,23(10):1386–1398.

[5] BROWNLEE I A.The physiological roles of dietary fibre[J].Food Hydrocolloids,2011,25(2):238–250.

[6] NORTEY T N,PATIENCE J F,SIMMINS P H,et al.Effects of individual or combined xylanase and phytase supplementation on energy,amino acid,and phosphorus digestibility and growth performance of grower pigs fed wheat-based diets containing wheat millrun[J].Journal of Animal Science,2007,85(6):1432–1443.

[7] ZHANG G G,YANG Z B,WANG Y,et al.Effects of dietary supplementation of multi-enzyme on growth performance,nutrient digestibility,small intestinal digestive enzyme activities,and large intestinal selected microbiota in weanling pigs[J].Journal of Animal Science,2014,92(5):2063–2069.

[8] HE J,YIN J,WANG L,et al.Functional characterisation of a recombinant xylanase from *Pichia pastoris* and effect of the enzyme on nutrient digestibility in weaned pigs[J].British Journal of Nutrition,2010,103(10):1507–1513.

[9] KIARIE E,NYACHOTI C M,SLOMINSKI B A,et al.Growth performance,gastrointestinal microbial activity,and nutrient digestibility in early-weaned pigs fed diets containing flaxseed and carbohydrase enzyme[J].Journal of Animal Science,2007,85(11):2982–2993.

[10] OLUKOSI O A,SANDS J S,ADEOLA O.Supplementation of carbohydrases or phytase individually or in combination to diets for weanling and growing-finishing pigs[J].Journal of Animal Science,2007,85(7):1702–1711.

[11] WOYENGO T A,SANDS J S,GUENTER W,et al.Nutrient digestibility and performance responses of growing pigs fed phytase- and xylanase-supplemented wheat-based diets[J].Journal of Animal Science,2008,86(4):848–857.

[12] NITRAYOVÁ S,HEGER J,PATRÁŠ P,et al.Effect of xylanase on apparent ileal and total tract digestibility of nutrients and energy of rye in young pigs[J].Archives of Animal Nutrition,2009,63(4):281–291.

[13] ZIJLSTRA R T,OWUSU-ASIEDU A,SIMMINS P H.Future of NSP-degrading enzymes to improve nutrient utilization of co-products and gut health in pigs[J].Livestock Science,2010,134(1/2/3):255–257.

[14] BEDFORD M R,CLASSEN H L.An *in vitro* assay for prediction of broiler intestinal viscosity and growth when fed rye-based diets in the presence of exogenous enzymes[J].Poultry Science,1993,72(1):137–143.

[15] MALATHI V,DEVEGOWDA G.*In vitro* evaluation of nonstarch polysaccharide digestibility of feed ingredients by enzymes[J].Poultry Science,2001,80(3):302–305.

[16] 王恩玲,张宏福,赵峰,等.离体法优化肉鸭日粮非淀粉多糖酶酶谱的研究[J].饲料工业,2008,29(10):9–14.

[17] 何科林,萨仁娜,高杰,等.体外法优化肉鸡日粮非淀粉多糖酶[J].中国农业科学,2012,45(21):4457–4464.

[18] NARASIMHA J,NAGALAKSHMI D,REDDYY R,et al.Evaluation of non starch polysaccharide degrading enzymes and enzyme combinations for their ability to degrade non starch polysaccharides of layer diet by two stage *in vitro* digestion assay[J].Journal of Veterinary & Animal Sciences,2013,9(3):188–194.

[19] 胡光源,赵峰,张宏福,等.饲粮蛋白质来源与水平对生长猪空肠液组成的影响[J].动物营养学报,2010,22(5):1220–1225.

[20] CHEN L,GAO L X,HUANG Q H,et al.Prediction of digestible energy of feed ingredients for growing pigs using a computer-controlled simulated digestion system[J].Journal of Animal Science,2014,92(9):3887–3894.

[21] 中华人民共和国农业部.NY/T 912-2004 饲料添加剂 纤维素酶活力的测定 分光光度法[S].北京:中国农业出版社,2005.

[22] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 23874-2009 饲料添加剂木聚糖酶活力的测定 分光光度法[S].北京:中国标准出版社,2009.

[23] 中华人民共和国农业部.NY/T 911-2004 饲料添加剂 β 葡聚糖酶活力的测定 分光光度法[S].北京:中国农业出版社,2005.

[24] NRC.Nutrient requirements of swine[S].11th ed.Washington,D.C.:National Academy Press,2012.

[25] 赵峰,张宏福,张子仪.单胃动物仿生消化系统操作手册[M].2 版.北京:中国农业科学院,2011.

[26] BACH KNUDSEN K E,CANIBE N.Breakdown of plant carbohydrates in the digestive tract of pigs fed on wheat- or oat-based rolls[J].Journal of the Science of Food and

Agriculture,2000,80(8):1253–1261.
[27] BACH KNUDSEN K E,JØRGENSEN H.Impact of wheat and oat polysaccharides provided as rolls on the digestion and absorption processes in the small intestine of pigs[J].Journal of the Science of Food and Agriculture,2007,87(13):2399–2408.
[28] VORAGEN A G J,COENEN G J,VERHOEF R P,et al.Pectin,a versatile polysaccharide present in plant cell walls[J].Structural Chemistry,2009,20(2):263–275.
[29] OLUKOSI O A,BEDFORD M R,ADEOLA O.Xylanase in diets for growing pigs and broiler chicks[J].Canadian Journal of Animal Science,2007,87(2):227–235.
[30] EMIOLA I A,OPAPEJU F O,SLOMINSKI B A,et al.Growth performance and nutrient digestibility in pigs fed wheat distillers dried grains with solubles-based diets supplemented with a multicarbohydrase enzyme[J].Journal of Animal Science,2009,87(7):2315–2322.
[31] REILLY P,SWEENEY T,O'SHEA C,et al.The effect of cereal-derived beta-glucans and exogenous enzyme supplementation on intestinal microflora,nutrient digestibility,mineral metabolism and volatile fatty acid concentrations in finisher pigs[J].Animal Feed Science and Technology,2010,158(3/4):165–176.
[32] DIEBOLD G,MOSENTHIN R,PIEPHO H P,et al.Effect of supplementation of xylanase and phospholipase to a wheat-based diet for weanling pigs on nutrient digestibility and concentrations of microbial metabolites in ileal digesta and feces[J].Journal of Animal Science,2004,82(9):2647–2656.
[33] SALEH F,OHTSUKA A,TANAKA T,et al.Effect of enzymes of microbial origin on *in vitro* digestibilities of dry matter and crude protein in soybean meal[J].Animal Science Journal,2003,74(1):23–29.
[34] BOISEN S,FERNÁNDEZ J A.Prediction of the total tract digestibility of energy in feedstuffs and pig diets by *in vitro* analyses[J].Animal Feed Science and Technology,1997,68(3/4):277–286.
[35] REGMI P R,SAUER W C,ZIJLSTRA R T.Prediction of *in vivo* apparent total tract energy digestibility of barley in grower pigs using an *in vitro* digestibility technique[J].Journal of Animal Science,2008,86(10):2619–2626.
[36] SAUVANT D,PEREZ J M,TRAN G.Tables of composition and nutritional value of feed materials:pigs,poultry,cattle,sheep,goats,rabbits,horses and fish[M].Netherlands:Wageningen

Academic Publishers,2004.

[37] CHOCT M.Feed non-starch polysaccharides:chemical structures and nutritional significance[J].Feed Milling International,1997,6:13–26.

[38] BENAMROUCHE S,CRÔNIER D,DEBEIRE P,et al.A chemical and histological study on the effect of (1→4)-β-endo-xylanase treatment on wheat bran[J].Journal of Cereal Science,2002,36(2):253–260.

[39] KUMAR V,SINHA A K,MAKKAR H P S,et al.Dietary roles of non-starch polysachharides in human nutrition:a review[J].Critical Reviews in Food Science and Nutrition,2012,52(10):899–935.

[40] KERR B J,SHURSON G C.Strategies to improve fiber utilization in swine[J].Journal of Animal Science and Biotechnology,2013,4:11.

[41] JUANPERE J,PÉREZ-VENDRELL A M,ANGULO E,et al.Assessment of potential interactions between phytase and glycosidase enzyme supplementation on nutrient digestibility in broilers[J].Poultry Science,2005,84(4):571–580.

[42] 赵敏.非淀粉多糖酶对蛋鸡日粮能量代谢调控的研究[D].硕士学位论文.西宁:青海大学,2007.

Optimization of Non-Starch Polysaccharide Enzymes of Diets for Growing Pig Using *in Vitro* Method

GAO Lixiang[1,2] CHEN Liang[1,2] CUI Shigui[2,3] XIE Yuehua[2,3] ZHANG Hongfu[1,2*]

(1. *State Key Laboratory of Animal Nutrition*, *Institute of Animal Sciences*, *Chinese Academy of Agriculture Science*, *Beijing* 100193, *China*; 2. *Huaian Research Center of Healthy Breeding and Feed Science*, *Chinese Academy of Agriculture Science*, *Huaian* 223005, *China*; 3. *Jiangsu Huawei Animal Feed Development Co.*, *Ltd.*, *Huaian*, 223005, *China*)

Abstract: Aimed to resolve the problem of massive work and poor comparability for screening non-starch polysaccharides (NSP) enzymes by animal experiment, the study was conducted to optimize the NSP enzymes combination of corn-soybean meal diet and corn-miscellaneous meal diet for growing pig using an *in vitro* method. The first step was to determine the dose-response of the NSP enzymes supplemental level on the *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) of diets

using one-way randomized experimental design. The NSP enzymes including cellulase, xylanase, β-glucanase, β-mannanase, α-galactosidase and pectinase were added into corn-soybean meal diet and corn-miscellaneous meal diet, and to analysis the effects of NSP enzymes on the IVDMD of diets. The second step was to screen the optimum enzyme combinations of 6 kinds NSP enzymes using quadratic orthogonal rotation combination design. The results showed as follows: 1) quadratic effects of NSP enzymes on the IVDMD of diets for growing pig were observed. 2) The α-galactosidase had a greatest effect in all NSP enzymes of corn-soybean meal diet and increased the IVDMD by 1.28%; whereas xylanase increased the IVDMD of corn-miscellaneous meal diet by 1.95%. 3) The optimum enzyme combination in the corn-soybean meal diet was cellulase 533.6 U/kg, xylanase 9 983.7 U/kg, β-glucanase 1 014.4 U/kg, β-mannanase 4 080.6 U/kg, α-galactosidase 251.6 U/kg and pectinase 107.3 U/kg. The optimum enzyme combination in the corn-miscellaneous meal diet was cellulase 960.0 U/kg, xylanase 17 177.6 U/kg, β-glucanase 405.8 U/kg, β-mannanase 19 023.2 U/kg, α-galactosidase 307.2 U/kg and pectinase 96.9 U/kg. 4) The IVDMD of corn-soybean meal diet was increased by 3.26% and the IVDMD of the corn-miscellaneous meal diet was also increased 3.75% using the optimum NSP enzymes combination. In conclusion, the combination of the 6 NSP enzymes can improve the IVDMD of corn-soybean meal diet and corn-miscellaneous meal diet for growing pig diets more effectively.

Key words: NSP enzyme; pig; diet; *in vitro* dry matter digestibility; optimization

---

* Corresponding author, professor, E-mail: zhanghongfu@caas.cn （责任编辑　武海龙）